Aus der Königlichen Medizinischen Klinik zu Breslau.
(Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Minkowski.)

Die Säureagglutination der Bakterien und ihre Verwertung in der Praxis.

Inaugural-Dissertation

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich Wilhelms-Universität zu Breslau

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin und Chirurgie

vorgelegt von

Walther Reim
aus Schweidnitz.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Breslau 1912.
Druck der Breslauer Genossenschafts-Buchdruckerei, E. G. m. b. H.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Breslau.
Referent: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Minkowski.

Meinen Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548206_0163

Die Entdeckung der Agglutination durch Gruber und Durham ist für die gesamte Bakteriologie von weittragendster Bedeutung geworden. Der Hauptwert der Reaktion liegt darin, daß sie es uns ermöglicht, mit gewissen Ausnahmen (Gruppenagglutination) die Spezifität der Mikroorganismen genau festzustellen; dadurch ist sie zum Ausgangspunkt für die Serumdiagnostik geworden. Seitdem hat sich eine große Anzahl von Autoren mit dem Studium des Agglutinationsphänomens befaßt. Anfangs war das hierüber ermittelte Tatsachenmaterial nur ein sehr geringes; daher die zum Teil grobmechanischen Erklärungsversuche. So nahm Gruber ein Klebrigwerden der Bakterienhüllen an; einen ähnlichen Standpunkt vertritt Nicolle. Diese Annahme erwies sich indessen als nicht richtig. Die agglutinierten Bakterien zeigten keinerlei Struktur- oder Organveränderungen; sie nahmen Farbstoffe ebenso an wie von Agglutinin unbeeinflußte Bakterien; sie ließen sich endlich weiterzüchten. Vidal erbrachte später den Nachweis, daß die Reaktion auch mit abgetöteten Bakterien angestellt werden kann. Eine wesentliche Förderung unserer Kenntnisse über das Agglutinationsphänomen brachte 1897 die Krausssche Entdeckung der spezifischen Niederschlagsbildung, auf Grund deren Paltauf die Hypothese aufstellte, daß wir es in der Agglutination mit keiner Strukturveränderung der Bakterienleiber, sondern mit einem Koagulationsvorgange zu tun haben. Kraus hatte nämlich an Typhus-,

Cholera- und Pestbouillonkulturen gezeigt, daß die homologen agglutinierenden Sera imstande seien, das aus diesen Kulturen gewonnene Filtrat zur Präzipitation zu bringen. Die ausgefällten Substanzen gehörten, wie er und später Wassermann anderen Autoren gegenüber einwandfrei feststellten, den Bakterienleibern an. Bei Einwirkung eines Agglutinins auf eine Bakterienemulsion spricht man also von Agglutination, bei Einwirkung eines Agglutininserums auf eine Eiweißlösung dagegen von Präzipitation. Die Agglutination beruht demnach auf der Präzipitation einer in den Bakterien enthaltenen Substanz; der Agglutinationsprozeß ist der Präzipitation gelöster Eiweißstoffe vollkommen analog.

Es ist leicht begreiflich, daß man bald nach der Entdeckung des Agglutinationsphänomens nach Substanzen suchte, die dieselben Erscheinungen in Bakteriensuspensionen hervorriefen wie die Agglutinine, teils um die wirksame Substanz der agglutinierenden Sera zu ermitteln, teils um das Wesen des Ausflockungsphänomens zu ergründen, teils endlich um chemische Substanzen zu finden, die eine gewisse Spezifität für Bakterien hätten und dadurch diagnostisch verwertbar wären. Eingehend befaßte sich mit dieser Frage Malvoz. Er fand, daß Typhusbazillen durch Alkohol, Sublimat, Formalin, Vesuvin u. a. zur Agglutination gebracht werden; Colibakterien werden durch alle diese Stoffe nicht beeinflußt. Indessen führten diese Versuche zu keinem befriedigenden Ergebnis.

Einen tieferen Einblick in das Wesen des Agglutinationsprozesses gewann man erst durch die Fortschritte in der physikalischen Chemie der Colloide. Daß die Immunkörper Colloide sind, ist bewiesen und wohl von den meisten Autoren anerkannt. Schon Bordet hatte 1899 auf gewisse Analogien des Agglutinationsphänomens mit der Ausflockung feiner Suspensionen hingewiesen. Er zeigte, daß die Bakterien nicht durch das Agglutinin allein ausgefällt werden, sondern daß die Anwesenheit von Salzen unbe-

dingt erforderlich sei. Er nahm an, daß die Bakterien durch das Agglutinin gewissermaßen in inerte Partikelchen umgewandelt, und diese durch die Salze zur Ausfüllung gebracht würden. Diese Annahme fand eine Bestätigung durch Joos und Friedberger, wenn auch der Rolle der Salze von diesen Autoren eine andere Bedeutung zugeschrieben wurde als von Bordet.

Zangger war wohl der erste, der, gestützt auf zahlreiche Untersuchungen von Landsteiner und Jagié, Henri und Girard-Mangin, Neißer, Friedemann, Bechhold u. a., die Auffassung vertrat, daß die Wirkung der Antikörper in der Hauptsache durch ihren Colloidzustand bedingt sei. Beim Vergleiche der Antikörper mit den Colloiden fand er eine vollkommene Übereinstimmung in ihren Eigenschaften. Sie kristallisieren nicht, diffundieren schwer, sind unbeständig. Die Reaktionskurven der Antikörper haben mit den Absorptionskurven der Colloide große Ähnlichkeit. Alle Einflüsse, die auf Colloide einwirken, zeigen gleiche Wirksamkeit den Antikörpern gegenüber. Colloide wie Antikörper werden durch Elektrolyte ausgefällt. Beide zeigen die Erscheinung der Kataphorese, d. h. im elektrischen Strome wandern sie zur Kathode resp. Anode. Die Zeit der Zusätze (Fraktionierung) beeinflußt wesentlich das Endresultat der Reaktion. Colloide und Antikörper erweisen sich in Lösung als optisch inhomogen, d. h. sie zeigen das Tyndallphänomen, polarisieren das Licht.

Für die Richtigkeit der Zangerschen Auffassung sprechen die experimentellen Untersuchungen von Landsteiner und Jagié, ferner die von Henri und Girard-Mangin. Es gelang den genannten Autoren, mit Hilfe verschiedener künstlich dargestellter Colloide Immunkörperreaktionen nachzuahmen. So erhielten die ersten beiden eine Erythrocytenagglutination mit Hilfe colloidaler Kieselsäure, die letzten beiden Erythrocytenagglutination mit colloidalem Eisenhydroxyd. Hierbei stellte es sich heraus, daß die Erythrocytenagglutination

durch Kieselsäure resp. durch colloidales Eisenhydroxyd genau unter denselben Bedingungen vor sich geht wie die spezifische Bakterienagglutination.

Auf einem ganz anderen Wege suchten Neißer, Friedemann und Bechhold die Frage des Agglutinationsmechanismus zu lösen. Sie beschäftigten sich hauptsächlich mit dem Verhalten der Bakteriensuspensionen. Sie stellten fest, daß es möglich sei, Bakteriensuspensionen durch Salze und Säuren zur Ausfällung zu bringen, und zwar parallel der Leitfähigkeit, Wertigkeit und Wanderungsgeschwindigkeit des wirksamen Jons. Ferner zeigten sie, daß die Bakterien im elektrischen Strom zur Anode wandern. Die Bakteriensuspension besitzt also die Eigenschaften einer colloidalen Lösung, speziell die eines elektronegativen Suspensionscolloides. Aus dem Verhalten der Bakteriensuspensionen gegenüber dem elektrischen Strome geht hervor, daß die Bakterien eine elektrische Ladung gegen Wasser annehmen. Infolge der gleichsinnigen Ladung der Suspensionsteilchen (Bakterien) müssen Kräfte entstehen, die sich einer Zusammenflockung widersetzen. Nach der Bredigschen Theorie wird durch die elektrische Ladung die Oberflächenspannung der einzelnen Suspensionsteilchen vermindert, die sonst zur Ausflockung führen würde. Bringt man nun eine Suspension mit einem Elektrolyt zusammen, so findet an der Berührungsstelle zwischen Suspensionspartikeln und elektrolythaltiger Flüssigkeit eine Entladung der Suspensionsteilchen durch das entgegengesetzt geladene Jon des Elektrolyten statt. Hierdurch kommt es zu einer Zunahme der Oberflächenspannung, die zur Zusammenflockung führt.

Einen wesentlichen Unterschied zwischen Bakteriensuspensionen und colloidalen Lösungen konstatierten Neißer und Friedemann in ihrem Verhalten gegenüber den Salzen der Alkalien und alkalischen Erden. Durch letztere werden Bakterien überhaupt nicht oder in nur sehr geringem Grade ausgefällt. Ein weiterer Unterschied besteht zwischen den agglutininbeladenen und den von

Agglutinin unbeeinflußten Bakterien. Während die ersteren durch Salze der Leichtmetalle, wie schon oben erwähnt worden ist, nur in geringem Grade oder gar nicht beeinflußt werden, zeigen die letzteren den genannten Elektrolyten gegenüber eine große Empfindlichkeit; z. B. werden agglutininbeladene Bakterien schon durch minimale Kochsalzmengen ausgefällt. Interessant ist ferner die Tatsache, daß agglutininbeladene Bakterien unter dem Einflusse des elektrischen Stromes zusammenflocken. Das Verhalten der Bakterien den Salzen der Leichtmetalle gegenüber charakterisiert sie als Eiweißkörper. Dies veranlaßte Neißer und Friedemann, auch die Einwirkung von Nichtelektrolyten auf Bakteriensuspensionen zu studieren. In der Tat gelang es ihnen, Bakterienemulsionen durch Alkohol, Formalin und andere Nichtelektrolyte zur Ausfällung zu bringen. Aus diesem Verhalten der Bakterien geht hervor, daß die in den Bakterienzellen enthaltenen Eiweißsubstanzen eine äußerst wichtige Rolle im Agglutinationsprozesse spielen müssen. Die weiteren hierüber angestellten Untersuchungen von Neißer und Friedemann ergeben, daß die Bakterieneiweißkörper (Bakterienproteïne) die Fällung der Bakterien hemmen. Durch das Agglutinin wird die hemmende Wirkung der Bakterienproteïne aufgehoben.

Um die eben geschilderten Verhältnisse zu veranschaulichen, stellten Neißer und Friedemann ein Gemisch einer Mastixsuspension mit Gelatine her. Dabei konstatierten sie folgende interessante Tatsache: Bei einem bestimmten Verhältnis der Mischung war die zur Ausfällung notwendige Salzkonzentration eine viel geringere, als sie für die einzelnen Komponenten der Mischung erforderlich ist. Ferner stellte es sich heraus, daß die Einwirkung des elektrischen Stromes in dem Mastix-Gelatinegemische eine Ausflockung hervorrief. Es ist demnach wohl in den Agglutininbakterien eine Verbindung zweier Colloide enthalten. Ob nun das Agglutinin ein amphoteres Colloid darstellt, welches durch die Salze einsinnig geladen wird und nun

die Bakteriensuspension ausfällt, oder ob innerhalb der Bakterien aus der Verbindung des Agglutinins mit der agglutinablen Substanz ein neues Colloid entsteht ähnlich dem Mastix-Gelatinegemisch, ist noch eine unentschiedene Frage.

Alle eben geschilderten Versuche dienen nur dazu, den Mechanismus des Agglutinationsphänomens zu erklären. Diagnostisch sind sie nicht verwertbar. Zwar sind die Konzentrationen, in denen man die fällenden Salze bezw. Colloide anwendet, von großer Bedeutung für den Ausflockungsvorgang — zu geringe Mengen, ebenso ein Überschuß der fällenden Substanz bewirken keine Ausfällung der Bakterien — doch gibt es für die einzelnen Bakterienarten keine so eng umschriebenen Fällungsoptima, wie wir sie später bei der Agglutination der Bakterien durch Säuren kennen lernen werden.

Gestützt auf die Ergebnisse von Neißer, Friedemann und Bechhold unterzog Porges die Frage des Agglutinationsmechanismus und der Colloidausflockung einer weiteren eingehenden Untersuchung und kam auf Grund derselben zu der Annahme, daß die Bakterienproteïne die Hauptrolle im Agglutinationsprozesse spielen. Daß seine Annahme berechtigt war, geht aus folgenden Versuchen hervor. Erhitzen der Bakterien auf 80 ° C erhöht ihre Widerstandsfähigkeit Immunseris wie nicht spezifischen Agglutinationsfaktoren gegenüber; Sieden der Bakterien setzt dieselbe herab oder hebt sie vollkommen auf, so daß es unter Umständen zu einer Spontanagglutination kommen kann.

Als weiteren Beweis für die Hauptrolle der Bakterienproteïne im Agglutinationsprozeß führt Porges das Verhalten der Bakterien gegen die Salze der Alkalien und alkalischen Erden an. In Konzentrationen, in denen dieselben auf Eiweißkörper fällend wirken, bewirken sie auch Fällung der Bakterien.

Für die Hauptrolle der Bakterienproteïne spricht endlich die von Porges konstatierte Tatsache, daß verschiedene Bakterienarten hinsichtlich ihres Widerstandes

gegen Salze sich genau so verhalten wie den Agglutininen gegenüber. Diese Erscheinung läßt sich durch einen verschiedenen Gehalt der Bakterien an Proteïnen erklären.

In seinen weiteren Studien über das Ausflockungsphänomen beschäftigte sich Porges mit dem Einfluß verschiedener Bedingungen auf die Agglutination. Seine Ergebnisse sind in kurzem folgende: Mit Zunahme des fällenden Colloides sinkt die minimale Salzkonzentration. Ein Überschuß des einen oder anderen Colloides führt zu einer Hemmung der Ausflockung. Denselben Bedingungen unterliegt auch die Agglutination.

Aus den voraufgehenden Darstellungen ergibt sich, daß wir es in der Agglutination sowohl der spezifischen wie der unspezifischen mit einem physikalisch-chemischen Vorgange zu tun haben, der einerseits den Ausflockungserscheinungen der Colloide, andrerseits der Ausfällung von Eiweißsubstanzen vollkommen analog ist.

Die Fortschritte auf dem Gebiete der Eiweißchemie, besonders die Förderung unserer Kenntnisse über die Eiweißkoagulation, veranlaßten in neuester Zeit Leonor Michaelis, die Untersuchungen der früheren Autoren über die Agglutination weiter fortzusetzen und zu vervollständigen. Michaelis befaßte sich speziell mit der Agglutination der Bakterien durch Säuren und lehrte uns in derselben eine besonders in diagnostischer Hinsicht verwertbare Methode kennen.

Pauli hatte in seinen Untersuchungen über die Eiweißkoagulation gezeigt, daß Serumeiweiß in elektrolytfreier wässriger Flüssigkeit keine elektrische Ladung besitzt; durch Säuren wird es elektropositiv, durch Basen elektronegativ. Das Koagulationsoptimum des Serumeiweiß liegt bei einer neutralen Reaktion desselben. Durch Michaelis erfuhren diese Untersuchungen eine Berichtigung. Er stellte fest, daß das Koagulationsoptimum resp. Löslichkeitsminimum gewisser Eiweißstoffe und eiweißähnlicher Körper, wie z. B. Tyrosin, Aminobenzoesäure, Serum-

globulin usw. bei einer, wenn auch nur ganz schwach sauren Reaktion gelegen sei. Diese Reaktion läßt sich genau bestimmen durch die Konzentration der Wasserstoffjonen.*) Hierbei stellte es sich heraus, daß das Fällungsoptimum der verschiedenen Eiweißkörper bei einer verschiedenen für diese spezifischen [H·] liegt. „Es ist also", sagt Michaelis, „für die Eiweißkörper charakteristisch, daß sie bei einer bestimmten [H·] am unlöslichsten sind, und daß sie umgekehrt aus ihren sauren bezw. alkalischen Lösungen durch Abstumpfung der sauren bezw. alkalischen Reaktion auf diese [H·] gebracht, ihr Minimum an Löslichkeit aufweisen." Das Fällungsoptimum der Eiweißkörper ist ferner, wie Michaelis zuerst am denaturierten Rinderserum nachwies, identisch mit dem isoelektrischen Punkte der Eiweißlösung; d. h. im Fällungsoptimum zeigen die Eiweißlösungen keinerlei elektrische Ladung. Albumine fallen im isoelektrischen Punkte nicht aus.

Die bei der Eiweißkoagulation gewonnenen Ergebnisse führten Michaelis zu der Annahme, daß auch in den Bakterien Substanzen vorhanden sein müssen, die ebenso wie die Eiweißkörper ein derartiges Fällungsoptimum aufweisen. Und in der Tat war diese Annahme berechtigt. Fast alle Bakterienarten haben ein bei einer bestimmten [H·] gelegenes, für sie charakteristisches Fällungsoptimum.

Ehe wir auf die Ergebnisse der Michaelisschen Untersuchungen näher eingehen, geben wir in kurzem eine Schilderung der Methodik. Wenden wir uns zunächst der Frage zu, wie man sich Lösungen von beliebiger [H·] bereitet. Handelt es sich um die Herstellung von Lösungen mit hoher [H·], so muß man anorganische Säuren anwenden, die bekanntlich weitgehend dissoziiert sind. Beispielsweise ist Normal-Salzsäure zu 78 %, $^1/_{10}$ n Salzsäure zu 91 % dissoziiert. Die [H·] in verschiedenen Salzsäurelösungen ist:

$$n\ HCl = 0{,}78 = 0{,}78 \cdot 10^{-0}$$
$$\tfrac{1}{10}\ n\ HCl = 0{,}091 = 0{,}91 \cdot 10^{-1}$$

*) Für Wasserstoffjonenkonzentration setzen wir im folgenden das Zeichen [H·].

$\frac{1}{100}$ n HCl = 0,0096 = $0{,}96 \cdot 10^{-2}$
$\frac{1}{1000}$ n HCl = 0,00098 = $0{,}98 \cdot 10^{-3}$

Zur Herstellung schwacher [H'] braucht man organische Säuren; noch niedrigere [H'] erhält man bei Anwendung organischer Säuren im Gemisch mit ihren Alkalisalzen, da letztere die Dissoziation herabsetzen. Die [H'] in verschiedenen Essigsäurelösungen beträgt:

n CH_3COOH = 0,0042 = $4{,}2 \cdot 10^{-3}$
$\frac{1}{10}$ n CH_3COOH = 0,0013 = $1{,}3 \cdot 10^{-3}$
$\frac{1}{100}$ n CH_3COOH = 0,00042 = $4{,}2 \cdot 10^{-4}$
$\frac{1}{1000}$ n CH_3COOH = 0,00013 = $1{,}3 \cdot 10^{-4}$

[H'] in einem Gemisch von n-Essigsäure und Natriumacetat:

$$\frac{\text{n } CH_3COOH}{\text{n } CH_3COONa}$$

32 : 1 = $5{,}76 \cdot 10^{-4}$
16 : 1 = $2{,}88 \cdot 10^{-4}$
8 : 1 = $1{,}44 \cdot 10^{-4}$
4 : 1 = $0{,}72 \cdot 10^{-4}$
2 : 1 = $3{,}6 \cdot 10^{-5}$
1 : 1 = $1{,}8 \cdot 10^{-5}$
1 : 2 = $0{,}9 \cdot 10^{-5}$
1 : 4 = $4{,}5 \cdot 10^{-6}$
1 : 8 = $2{,}3 \cdot 10^{-6}$
1 : 16 = $1{,}2 \cdot 10^{-6}$

Bei schwachen Säuren ist die [H'] proportional der Quadratwurzel aus der Säuremenge, die Berechnung der [H'] erfolgt nach der Formel:

$$[H'] = K \cdot \sqrt{\text{Säure.}}$$

In einem Gemisch von organischen Säuren mit ihren Alkalisalzen ist:

$$[H'] = K \cdot \frac{\text{Säure}}{\text{Salz}}.$$

K ist die Dissoziationskonstante und bedeutet für jede Säure eine gegebene Größe. K für Essigsäure ist $1{,}8 \cdot 10^{-5}$.

Aus der letzterwähnten Formel geht hervor, daß [H'] sowohl von K wie von dem Verhältnis der Säure- zur Salzmenge abhängig ist. Da nun K für die verschiedenen Säuren verschieden ist, so kann man leicht mit Hilfe verschiedener Säuren im Gemisch mit ihren Alkalisalzen jede beliebige [H'] erhalten.

Zur Herstellung der Säurelösung verwandte Michaelis n-Natronlauge und n-Essigsäure, die genau auf einander eingestellt waren, und zwar bereitete er sich folgende 6 Stammlösungen:

Lösung 1.	n NaOH 5,0	n CH_3COOH 7,5
Lösung 2.	n NaOH 5,0	n CH_3COOH 10,0
Lösung 3.	n NaOH 5,0	n CH_3COOH 15,0
Lösung 4.	n NaOH 5,0	n CH_3COOH 25,0
Lösung 5.	n NaOH 5,0	n CH_3COOH 45,0
Lösung 6.	n NaOH 5,0	n CH_3COOH 85,0

Zu allen Lösungen fügte er Aqu. dest. ad 100 hinzu. Berechnet man mit Hilfe der oben erwähnten Formel die [H'] in den 6 Lösungen, so ergibt sich, wenn man $K = 1.8 \cdot 10^{-5}$ setzt

Lösung 1. $[H'] = \frac{2{,}5 \cdot 1{,}8 \cdot 10^{-5}}{5} = 0{,}9 \cdot 10^{-5}$ rund $1 \cdot 10^{-5}$.

Lösung 2. $[H'] = \frac{5 \cdot 1{,}8 \cdot 10^{-5}}{5} = 1{,}8 \cdot 10^{-5}$ „ $2 \cdot 10^{-5}$.

Lösung 3. $[H'] = \frac{10 \cdot 1{,}8 \cdot 10^{-5}}{5} = 3{,}6 \cdot 10^{-5}$ „ $4 \cdot 10^{-5}$.

Lösung 4. $[H'] = \frac{20 \cdot 1{,}8 \cdot 10^{-5}}{5} = 7{,}2 \cdot 10^{-5}$ „ $8 \cdot 10^{-5}$.

Lösung 5. $[H'] = \frac{40 \cdot 1{,}8 \cdot 10^{-5}}{5} = 14{,}4 \cdot 10^{-5}$ „ $16 \cdot 10^{-5}$.

Lösung 6. $[H'] = \frac{80 \cdot 1{,}8 \cdot 10^{-5}}{5} = 28{,}8 \cdot 10^{-5}$ „ $32 \cdot 10^{-5}$.

Die [H'] nimmt in jeder Lösung um das Doppelte zu.

Außer der Essigsäure kann man auch Milchsäure und Laevulinsäure anwenden. Benjasch, der die Untersuchungen von Michaelis fortsetzte, stellte sich von allen drei Säuren und deren Natronsalzen je neun Lösungen her und zwar folgendermaßen:

A.

	1	2	3	4	5
$\frac{1}{10}$ n Milchsäure 1 5 . .	0,06	0,12	0,25	0,5	1,0
$\frac{1}{10}$ n Milchsaures Natr.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Aqua dest.	1,54	1,48	1,35	1,1	0,6
[H·]	$1{,}7 \cdot 10^{-5}$	$3.5 \cdot 10^{-5}$	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$

	6	7	8	9
n Milchsäure 6—9 . .	0,2	0,4	0,8	1,6
$\frac{1}{10}$ n Milchsaures Natr. .	0,5	0,5	0,5	0,5
Aqua dest.	1,4	1,2	0,8	0
[H·]	$5{,}6 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-3}$	$4{,}4\ 10^{-3}$

B.

	1	2	3	4	5
$\frac{1}{10}$ n Essigsäure 1 - 5 . .	0,06	0,12	0,25	0,5	1,0
$\frac{1}{10}$ n Natr. acetat	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Aqua dest.	1,54	1,48	1,35	1,1	0,6
[H·]	$2{,}3 \cdot 10^{-6}$	$4{,}5 \cdot 10^{-6}$	$9 \cdot 10^{-6}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$

	6	7	8	9
n Essigsäure 6—9 . .	0,2	0,4	0,8	1,6
$\frac{1}{10}$ n Natr. acetat.	0,5	0,5	0,5	0,5
Aqua dest.	1,4	1,2	0,8	0
[H·]	$7{,}2 \cdot 10^{-5}$	$1{,}45 \cdot 10^{-4}$	$2.9 \cdot 10^{-4}$	$5{,}8 \cdot 10^{-4}$

C.

	1	2	3	4	5
$\frac{1}{10}$ n Laevulinsäure 1 - 5	0,09	0,18	0,36	0,72	1,44
$\frac{1}{10}$ n Laevulins. Natrium.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Aqua dest.	2,21	2,12	1,94	1,58	0,86
[H·]	$0{,}45 \cdot 10^{-5}$	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$7{,}2 \cdot 10^{-5}$

	6	7	8	9
n Laevulinsänre 6—9.	0,29	0,57	1,15	2,3
$\frac{1}{10}$ n Laevulins. Natrium.	0,5	0,5	0,5	0,5
Aqua dest.	2,01	1,73	1,15	0
]H·]	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	$5{,}6 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$

Die Anwendung mehrerer Säuren hat folgenden Grund: Wie wir später sehen werden, liegt das Fällungsoptimum der Typhusbazillen in Tabelle A bei Lösung 2, in Tabelle B bei Lösung 5, in Tabelle C bei Lösung 4. Vergleicht man die in den eben angegebenen Lösungen enthaltenen Säuremengen, so sind dieselben verschieden, wohl aber ist die [H'] die gleiche. Hieraus folgt, daß im Säureagglutinationsprozeß die [H'] der ausschlaggebende Faktor ist, nicht die absolute Menge der Säure.

Aus den Tabellen ist ferner zu ersehen, daß die Menge des angewandten Salzes konstant gewählt ist, während die Säuremengen variieren. Man könnte sich nun ebensogut Lösungen beliebiger [H'] herstellen, indem man in umgekehrter Weise zu gleichbleibenden Säuremengen steigende Mengen von Salzen hinzufügt. Letzteres Verfahren wendet Michaelis nicht an, da die Koagulation der Eiweißkörper durch zu hohe Salzkonzentrationen eine wesentliche Abschwächung und Verlangsamung erfährt.

Herstellung der Bakteriensuspension. In ein dicht bewachsenes Agarröhrchen oder Agarplatte von 24 Stunden bringt man ca. 25 ccm destilliertes Wasser und entfernt mit einer Platinöse vorsichtig die Bakterien von der Oberfläche, ohne den Nährboden zu verletzen. Die Bakterienemulsion soll nach Benjasch wesentlich dichter sein als die zur Vidalschen Reaktion zur Verwendung gelangende.

Von der so erhaltenen Emulsion bringt man je 3 resp. 1 ccm in 6 resp. 9 Reagenzgläser und setzt zu derselben je 1 ccm der Säurelösungen, und zwar zu Röhrchen 1 Lösung 1, zu Röhrchen 2 Lösung 2 usw. Nach etwa 40 Minuten langem Aufenthalt im Brutschrank tritt die Reaktion ein, in manchen Fällen erst erheblich später.

Wenden wir uns nun zu den Resultaten der Michaelisschen Untersuchungen. Bac. typhi abdominalis hat sein Fällungsoptimum bei $[H'] = 3{,}6 \cdot 10^{-5}$ rund $4 \cdot 10^{-5}$. Benjasch hatte bei 28 von 34 Typhuskulturen dieselben Resultate, bei den übrigen 6 Kulturen fand er das Fällungsoptimum bei $[H'] = 1{,}7 \cdot 10^{-5}$. Dieses abweichende Verhalten ist

nicht auf besondere Eigentümlichkeiten der betreffenden Kulturen zurückzuführen, sondern erklärt sich aus der Schwierigkeit, derartige Reaktionen ganz exakt unter Vermeidung sämtlicher Fehlerquellen anzustellen.

Die Gruppe der Enteritisbakterien erwies sich nach Michaelis der Säureagglutination gegenüber nicht als einheitlich, das Fällungsoptimum schwankt zwischen $[H^{\cdot}] = 3 \cdot 10^{-4}$ u. $2{,}5 \cdot 10^{-3}$. Man muß indessen bei der Beurteilung der Resultate, wie Benjasch hervorhebt, die Eigentümlichkeiten der Enteritisbakterien in Betracht ziehen.*) Ganz ähnlich wie die Enteritisbakterien verhalten sich Paratyphus B Bazillen, doch zeichnen sie sich im allgemeinen durch eine größere Stabilität aus.

*) Sobernheim und Seligmann stellten gelegentlich einer Fleischvergiftungsepidemie in Berlin fest, daß die Einteilung der Enteritisbakterien in eine Gärtner- und Paratyphusgruppe nicht immer zutreffend sei. Einige Kulturen zeigten fast allen homologen Seris gegenüber eine große Empfindlichkeit; andere dagegen erwiesen sich als sehr resistent, sie agglutinierten schwer und nur auf wenige Sera. Dieses verschiedene Verhalten ist auf die Eigentümlichkeit des Rezeptorenapparates zurückzuführen. Wie nun die Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann ergaben, bestehen zwischen diesen beiden Gruppen Zwischentypen. An zwei Enteritiskulturen konnten sie folgendes beobachten, 1. daß sie allmählich ihre Empfindlichkeit gegen Gärtnersera vollkommen einbüßten, 2. daß die mit Hilfe dieser Kulturen gewonnenen Sera sich Laboratoriumsstämmen gegenüber als vollkommen indifferent erwiesen, 3. endlich, daß sie auch kulturell Abweichungen von den Ausgangstypen zeigten. An anderen Stämmen wurde eine weitgehende Annäherung der Paratyphusgruppe an die Gärtnergruppe festgestellt. Die betreffenden Bakterienstämme agglutinierten mit Gärtnerserum. Ihre antigene Funktion war hierdurch nur wenig berührt. Ja sogar ein vollkommener Übergang der einen in die andere Gruppe wurde in einem Falle beobachtet. Diesem verschiedenen serologischen Verhalten entsprechen die scheinbar nicht einheitlichen Resultate der Säureagglutination vollkommen. Für die erste Hauptgruppe liegt das Fällungsoptimum bei $[H^{\cdot}] = 1{,}4 \cdot 10^{-4}$, für die zweite bei $[H^{\cdot}] = 2{,}2 \cdot 10^{-3}$. Bei den Zwischengruppen sind zwei Agglutinationszonen vorhanden $[H^{\cdot}] = 1{,}4 \cdot 10^{-4}$ und $2{,}2 \cdot 10^{-3}$. Das Optimum liegt bei $[H^{\cdot}] = 1{,}4 \cdot 10^{-4}$.

Bacterium coli wird durch Säuren überhaupt nicht ausgefällt, desgleichen Bacterium dysenteriae. Choleravibrionen agglutinieren bei einer [H'] von $2{,}76 \cdot 10^{-4}$ — $2{,}2 \cdot 10^{-3}$. Sie erweisen sich also nicht als einheitlich. Eine Identifizierung der einzelnen Vibrionenarten durch die Säureagglutination ist nicht möglich.

Tuberkelbazillen haben ihr Fällungsoptimum bei $0{,}6 \cdot 10^{-3}$.

Das Verhalten der Diphteriebazillen ist nicht einheitlich.

Als sehr widerstandsfähig erweist sich der Diplobazillus Friedländer; er agglutiniert bei einer [H'] von $4{,}4 \cdot 10^{-3}$ nur äußerst schwach.

Staphylokokken und Streptokokken verhalten sich der Säureagglutination gegenüber vollkommen gleichartig, ihr Fällungsoptimum liegt bei $[H'] = 2{,}2 \cdot 10^{-3}$ — $4{,}4 \cdot 10^{-3}$. Pneumokokken haben ihr Fällungsoptimum bei $[H'] = 2{,}76 \cdot 10^{-4}$ — $5{,}5 \cdot 10^{-4}$.

Sehr große Empfindlichkeit gegenüber der Säureagglutination zeigen Meningokokken, sie agglutinieren bei $[H'] = 0{,}7 \cdot 10^{-4}$ — $1{,}33 \cdot 10^{-4}$, ferner bei $[H'] = 1{,}7 \cdot 10^{-5}$ — $3{,}5 \cdot 10^{-5}$ am stärksten.

Gonokokken sind dagegen sehr resistent.

Wir haben oben festgestellt, daß die Bakteriensuspension sich wie ein Suspensionscolloid verhält, wir haben ferner gesehen, daß verschiedene Eiweißkörper ihr Fällungsoptimum im isoelektrischen Punkte haben. Es ist daher die Frage berechtigt, ob nicht auch das Fällungsoptimum der Bakteriensuspensionen mit dem isoelektrischen Punkte derselben identisch ist. Das Experiment scheint dem zu widersprechen. Leitet man durch eine Bakteriensuspension von Typhusbazillen einen elektrischen Strom und bringt die [H'] derselben auf die Stufe, die dem Fällungsoptimum der Typhusbazillen entspricht, so wird die negative elektrische Ladung der Bakterien nicht neutralisiert. Auch die weitere Erhöhung der [H'] führt nicht zu einer Umwandlung der negativen in eine positive Ladung. Dieses den

theoretischen Voraussetzungen scheinbar widersprechende Verhalten wird erklärlich, wenn man in Betracht zieht, daß die durch Säuren fällbare Substanz in den Bakterienleibern nur einen verschwindend kleinen Bruchteil derselben ausmacht. Die Bakterien enthalten neben der fällbaren Substanz eben noch andere Stoffe, die den Albuminen ähnlich sind. Diese aber flocken im isoelektrischen Punkte nicht aus.

Unter den von Michaelis und Benjasch bei der Säureagglutination ermittelten Resultaten ist praktisch am bedeutendsten und am schärfsten ausgeprägt die Agglutination der Typhusbazillen. Dies veranlaßte Rost, der die Michaelisschen Untersuchungen nachprüfte und mit Ausnahme der Paratyphusgruppe im wesentlichen dieselben Ergebnisse hatte, die Säureagglutination auf ihre praktische Verwertbarkeit hin zu prüfen. Die Versuche von Michaelis und Benjasch waren nur mit Reinkulturen angestellt. Rost zeigte als erster, daß die Methode auch für Mischkulturen, speziell für die Diagnostik der Bakterien im Stuhl anwendbar sei. Er brachte Mischkulturen von Coli und Typhus, Coli und Paratyphus usw. auf Agar, Endo- und Drigalskiagarplatten. Die Art des Nährbodens hat seiner Meinung nach keinen Einfluß auf den Gang der Reaktion. Nach 24 stündigem Wachstum schwemmte er die Kulturen mit destilliertem Wasser ab und stellte mit den so erhaltenen Suspensionen die Reaktion genau nach der von Michaelis gegebenen Vorschrift an. Typhusbazillen agglutinierten bei $[H^{\cdot}] = 3{,}6 \cdot 10^{-5}$ genau so wie in Reinkultur. Das gleiche Resultat erhielt Rost bei einer von Typhusstuhl gezüchteten Agarkultur. Auch bei anderen Mischkulturen trat Agglutination in dem für die betreffenden Bakterienarten spezifischen Fällungsoptimum auf, doch nie in so umschriebener Form wie in Reinkulturen. In einzelnen Fällen blieb die Agglutination vollkommen aus. Rost führt dies auf eine Überwucherung der betreffenden Bakterienart durch Coli zurück; denn in diesen Fällen gelang es nicht mehr, in der Ausgangskultur den betreffenden Stamm nach-

zuweisen. Durch die Säureagglutination erfährt die Lebens- und Wachstumsfähigkeit nach Rosts Erfahrungen keine Einschränkung. Eine vollkommene Isolierung der Bakterien durch dieselbe gelingt jedoch nicht, da immer durch die sich bildenden Niederschläge Colibakterien mitgerissen werden.

Die Methode ist also nach Rosts Erfahrungen nur für die Sicherstellung des Typhus verwertbar, in diesem Punkte bedeutet sie aber eine wertvolle Ergänzung unserer bisherigen bakteriologischen Untersuchungsmethoden.

Auf Veranlasung des Oberarztes unserer Klinik, Prof. Bittorf, unterzog ich die Michaelissche Methode besonders hinsichtlich ihrer praktischen Verwertung einer Nachprüfung; besonderer Wert wurde auf die Untersuchung von Stuhlgängen gelegt. Der Gang der Untersuchung war folgender: Von dem zu untersuchenden Stuhl wurde ein kleiner Teil mit Hilfe eines Drigalskispatels auf Agar- bezw. Endo- oder Drigalskiagarplatten ausgestrichen. Nach 24 stündigem Verweilen im Brutschrank wurden von einer der am dichtesten bewachsenen Agarplatten die Bakterienkolonien mit destilliertem Wasser abgeschwemmt und mit den Bakterienemulsionen die Reaktion angestellt. Etwa vorhandene verdächtige Kolonien wurden abgeimpft und nach den üblichen bakteriologischen Methoden untersucht. Die bakteriologischen Untersuchungen wurden von Herrn Dr. Schidorsky vorgenommen.

Bei den mit Reinkulturen angestellten Versuchen erhielt ich folgende Resultate:

Bac. typhi abdominalis agglutinierte bei $[H^{\cdot}] = 3{,}6 \cdot 10^{-5}$. Paratyphus-B. bei $[H^{\cdot}] = 1{,}6 \cdot 10^{-4} - 3{,}2 \cdot 10^{-4}$.

Bei Bact. enteritidis (Gärtner) konnte ich im Gegensatz zu Michaelis nie eine Agglutination beobachten. Bact. dysenteriae (Kruse-Shiga) erwies sich der Säureagglutination gegenüber als nicht einheitlich. Ein frisch aus dem Körper gezüchteter Stamm agglutinierte bei $[H^{\cdot}] = 1{,}6 \cdot 10^{-4}$ am stärksten, während ein alter Laboratoriumsstamm sein Fällungsoptimum bei $1{,}8 \cdot 10^{-5}$ hatte. Pseudo-

dysenteriebazillen werden durch Säuren nicht beeinflußt, ebenso führten die mit verschiedenen Colistämmen angestellten Untersuchungen stets zu einem negativen Resultat.

Die Versuche mit normalen Stühlen führten stets zu einem negativen Ergebnis. Selbst nach 2—3 stündigem Verweilen im Brutschrank trat kein Niederschlag auf; dagegen war nach 24 Stunden gewöhnlich in sämtlichen Röhrchen eine gleichmäßige Niederschlagsbildung nachzuweisen.

Im Laufe des Winters 1911 standen mir 8 Fälle von Typhus abdominalis zur Verfügung. In den ersten beiden handelte es sich um Patienten. die eben einen Typhus überstanden hatten. Die bakteriologische Untersuchung der Fäces ergab in beiden Fällen ein negatives Resultat, die Säureagglutination führte ebenfalls zu einem negativen Ergebnis.

Im dritten Falle wurden mehrfache Untersuchungen mit der Säureagglutination angestellt. Am Anfang der Erkrankung trat keine Agglutination auf. Auf der Höhe derselben, etwa in der dritten Woche, war die Säureagglutination positiv; das Fällungsoptimum lag bei $[H^{\cdot}] = 3{,}6 : 10^{-5}$. Auf Endoplatten waren verdächtige Kolonien gewachsen, jedoch ließen sich dieselben nicht mit Sicherheit als Typhusbazillen identifizieren. Bei der Entlassung war die Säureagglutination negativ, der bakteriologische Befund desgleichen.

Ähnlich verhielt sich der vierte Fall, der in der zweiten Krankheitswoche in die Klinik aufgenommen wurde. Vidal war positiv. Die bakteriologische Untersuchung des Stuhles hatte ein zweifelhaftes Resultat. Die Säureagglutination dagegen fiel positiv aus. Hierbei gelang es mir, festzustellen, daß die Art des Nährbodens nicht ganz ohne Einfluß auf den Gang der Reaktion bleibt. Die von gewöhnlichem Nähragar gewonnenen Bakterienemulsionen agglutinierten bei Zusatz von Säurelösungen viel stärker als die von Endoagar abgeschwemmten Suspensionen; anscheinend bewirkt der zu starke Salzgehalt des Endoagars (10 %iges Natriumsulfit) eine Hemmung der Ausflockung. Bei Weiter-

züchtung der Niederschläge erhielten wir immer Reinkulturen von Colibakterien. Wahrscheinlich werden, wie Benjasch annimmt, die säureempfindlichen Bakterien durch die Säuren abgetötet oder ihre Wachstums- und Lebensfähigkeit in schwerstem Maße geschädigt.

Der fünfte Fall betraf eine 20 jährige Patientin, die eben einen Typhus in der Klinik überstanden hatte. Bazillennachweis und Säureagglutination fielen negativ aus. Patientin bekam hierauf ein Rezidiv. Im Stuhl ließen sich bakteriologisch sicher Typhusbazillen nachweisen; die Michaelissche Reaktion fiel ebenfalls positiv aus. $[H^{\cdot}] = 3{,}6 \cdot 10^{-5}$.

Bei dem sechsten Falle war die Säureagglutination anfangs positiv ($[H^{\cdot}] = 3{,}6 \cdot 10^{-5}$), der bakteriologische Nachweis von Typhusbazillen gelang nicht. Etwa in der dritten Woche der Erkrankung ließen sich Bazillen im Stuhl nachweisen. Das Resultat der Säureagglutination war dementsprechend positiv.

Von besonderer Wichtigkeit ist der siebente Fall. Hier handelte es sich um eine Laboratoriumsinfektion mit einem sehr schwer agglutinablen Typhusstamm, was auch durch die Vidalsche Reaktion bestätigt wurde. Die Michaelissche Reaktion trat in diesem Falle bedeutend später und weniger intensiv ein als gewöhnlich, erst nach 2 Stunden. Es besteht also in diesem Punkte eine vollkommene Analogie zwischen spezifischer Agglutination und Säureagglutination, und es berechtigt uns dieses Verhalten zu dem Schlusse, daß die agglutinable Substanz in den Bakterienzellen den Angriffspunkt für die H' Jonen ebenso wie für die spezifischen Agglutinine darstellt.

Im letzten Falle endlich handelte es sich um einen Bazillendauerausscheider, der vor 11 Jahren einen Typhus durchgemacht hatte. Der Stuhl enthielt Reinkulturen von Typhusbazillen. Die Säureagglutination fiel dementsprechend stark positiv aus.

Zum Schlusse seien noch zwei Fälle erwähnt, die wegen Gallensteinbeschwerden und Ikterus in die Klinik auf-

genommen wurden. Beide Patienten hatten vor mehreren Jahren einen Typhus überstanden. Es handelte sich darum, festzustellen, ob die Patienten im Stuhl Typhusbazillen ausschieden. Die bakteriologische Untersuchung wie die Säureagglutination führte in beiden Fällen zu einem negativen Ergebnis.

Als sehr wertvoll erwies sich die Reaktion in 4 Fällen von schwerer Colitis, die sich in Fieber und schweren bluthaltigen Durchfällen äußerten. Die Michaelissche Reaktion fiel negativ aus. Bakteriologisch wurden Reinkulturen von Colibazillen festgestellt. Desgleichen gelang es in einem mit akuten Darmerscheinungen einsetzenden, paratyphusverdächtigen Falle, ferner in einem Falle von Miliartuberkulose, der unter dem Bilde eines Typhus abdominalis verlief, mit Hilfe der Michaelisschen Methode Colibazillen als Erreger der Darmaffektion nachzuweisen. Die bakteriologische Untersuchung bestätigte das mit Hilfe der Säureagglutination erhaltene Ergebnis.

Weniger einheitlich waren die bei einem Fall von Dysenterie (Shiga-Kruse) und bei einem Falle von Enteritis ulcerosa erhobenen Befunde.

Die mit dem Stuhlgang angestellte Reaktion ergab im ersten Falle eine Agglutination bei $[H'] = 1{,}6 \cdot 10^{-4} - 3{,}2 \cdot 10^{-4}$. Die aus diesem Stuhle gezüchteten Reinkulturen von Dysenteriebazillen zeigten dasselbe Fällungsoptimum, während ein mit einem alten Laboratoriumsstamm angestellter Versuch, wie schon oben erwähnt, zu einem wesentlich abweichenden Ergebnis führte. Das Fällungsoptimum lag hier bei einer $[H']$ von $1{,}8 \cdot 10^{-5}$.

In dem letzten Falle ergab die mit Stuhl angestellte Reaktion einen deutlichen Niederschlag bei $[H'] = 3{,}2 \cdot 10^{-4}$, während die Reinkulturen überhaupt nicht ausgeführt wurden.

Fassen wir die voraufgehenden Darstellungen kurz zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. Bakterien werden durch Säuren ausgefällt.

2. Jede Bakterienart hat ihr Fällungsoptimum bei einer engumschriebenen Wasserstoffjonenkonzentration.
3. In dem Säureagglutinationsprozesse ist die Wasserstoffjonenkonzentration der ausschlaggebende Faktor.
4. Die Wasserstoffjonenkonzentration ist abhängig von dem Verhältnis der Säure zur Salzmenge, ferner von der Dissociationskonstante.
5. Die praktische Verwendung der Michaelisschen Reaktion führt bei Typhus abdominalis, ferner bei den durch Coli bedingten Darmaffektionen zu absolut sicheren Resultaten. Besonders wertvoll ist sie in den Fällen, in denen die Resultate der bakteriologischen Untersuchung zweifelhaft sind oder uns vollkommen im Stich lassen. Sie hat den Vorzug der Einfachheit und führt uns in den genannten Fällen schneller zu einem Resultat, als es mit Hilfe der bisher bekannten bakteriologischen Untersuchungsmethoden möglich ist.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Geheimrat Minkowski für die freundliche Überlassung des Materials, sowie Herrn Professor Bittorf und Herrn Dr. Schidorsky für die Anregungen und Unterstützung, die sie mir bei meinen Untersuchungen zuteil werden ließen, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

Paltauf, Die Agglutination. Handbuch von Kolle-Wassermann.

Gruber und Durham, Münchener med. Wochenschr. 1896.

Gruber, ibidem 1899.

Nicolle, Annales de l'Inst. Pasteur 1898.

Pfeiffer und Kolle, Zentralblatt f. Bakt. XX. 1898.

Kraus, Spezifische Niederschläge. Handbuch von Kolle-Wassermann.

— Wiener klin. Wochenschr. 1897.

— ibidem 1898.

Paltauf, ibidem 1897.

Levy und Bruns, Berliner klin. Wochenschr. 1897.

Kraus und Pirquet, Zentralblatt für Bakt. 1902.

Wassermann, Zeitschrift f. Hyg. 1902.

Malvoz, Annales de l'Inst. Pasteur 1899, cit. nach Paltauf.

Bordet, ibidem 1896.

— ibidem 1899.

Joos, Zeitschrift f. Hyg. 1902.

Friedberger, Zentralblatt f. Bakt. 1903.

Zangger, ibidem 1905 Referate.

Landsteiner und Jagié, Münchener med. Wochenschrift 1903.

Landsteiner, Wiener klin. Wochenschr. 1904.

Henri und Girard-Mangin, cit. nach Porges.

Neißer und Friedemann, Münchener med. Wochenschrift 1904.

Bechhold, Colloidchemie.

Friedemann, Berliner klin. Wochenschr. 1904.

Porges, Zentralblatt f. Bakt. 1906.

Kirstein, Zeitschrift f. Hygiene.
Michaelis, Deutsche med. Wochenschr. 1911 Nr. 21.
— Biochemische Zeitschrift 1909 Bd. 19.
Michaelis und Davidsohn, ibidem Bd. 30 S. 143.
Michaelis und Mostynski, ibidem 1910 Bd. 24.
Michaelis und Rohna, ibidem Bd. 27 S. 38.
— ibidem Bd. 28 S. 193.
Michaelis, ibidem 1910 Bd. 27 S. 41.
— Methoden zur Herstellung bestimmter Wasserstoffjonenkonzentrationen: im Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden v. Abderhalden.
Benjasch, Zeitschrift f. Immunitätsforschung 1912 Bd. 12.
Sobernheim und Seligmann, ibidem 1910 Bd. 10.
Schidorsky und Reim, Deutsche med. Wochenschr. 1912 Nr. 24.

Lebenslauf.

Verfasser der vorstehenden Arbeit wurde am 2. Mai 1887 zu Schweidnitz als Sohn des Gymnasialprofessors Dr. Reim geboren. Er ist evangelisch und preußischer Staatsangehöriger. Er besuchte von 1894—1897 die evangelische Mittelschule, von 1897—1906 das evangelische Gymnasium zu Schweidnitz, woselbst er am 28. Februar 1906 das Abiturium bestand. Er studierte 5 Semester in Marburg, wo er 1908 sein Physikum bestand, 1 Semester in Berlin und 4 Semester in Breslau. Hier bestand er am 26. Mai 1911 sein Staatsexamen. Als Medizinalpraktikant war er 9 Monate in der medizinischen Klinik der Universität Breslau (Direktor Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Minkowski) und 3 Monate am Königl. pathologischen Institut der Universität Breslau (Direktor Geh. Medizinalrat Professor Dr. Ponfick) beschäftigt.

Während seiner Studienzeit besuchte er die Vorlesungen folgender Herren, denen er zu großem Dank verpflichtet ist:

In Marburg:

Ackermann, Disse (†), Fries, Gasser, Korschelt, Kutscher, Lohmann, Meyer, Richarz, Schenck, Zincke, Zumstein (†).

In Berlin:

Axhausen, His, Lewin, Oestreich, Sonnenburg, Steyrer.

In Breslau:

Allard, Bittorf, Bonhoeffer, Coenen, Danielsen, Filehne, L. Fraenkel, Hannes, Hasse, Hinsberg, Kramer, Küstner, Küttner, Lenz, Lesser, Ludloff, Minkowski, Neisser, v. Pirquet, Pfeiffer, Ponfick, Stern (†), Uhthoff, Winkler, Ziegler.